คำนำ

โรคเบาหวาน [1] เป็นโรคเรื้อรัง และเป็นโรคที่ถ่ายทอดทางกรรมพันธุ์ ไม่เลือกเพศ ไม่เลือกวัย โรคเบาหวานเกิดจากต่อมที่ตับอ่อนทำงานหลั่งอินซูลินออกมาไม่ปกติ มีผลทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดสูงมากกว่าปกติ ปัญหาของโรคเบาหวานก็คือ 1. ชาวไทยส่วนใหญ่ยังขาดความรู้เกี่ยวกับโรคเบาหวาน จึงไม่ได้ให้ความสำคัญต่อโรคดังกล่าว ซึ่งอาจทำให้บางคนพบจุดจบอย่างน่าเศร้าใจก็คือ ถึงขั้นต้องถูกแพทย์ตัดแขนและขาออก เพราะว่าเซลล์ผิวหนังตาย ต้องเสียชีวิตก่อนวัยอันควร หรือผู้ป่วยบางคนได้สูญเสียการมองเห็นตลอดชีวิต 2. ผู้ป่วยที่มีภาวะน้ำตาลสูงเป็นเวลานานๆ ทำให้เกิดการเสื่อมของอวัยวะต่างๆ เช่น ตา หัวใจ ไต เส้นประสาท และเส้นเลือด ฯลฯ จากการศึกษาพบว่าอาการแทรกซ้อนทางไตประมาณ 35% เกิดขึ้นกับผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานมานานประมาณ 10 ปี ซึ่งจะตรวจพบภาวะไตวายในระยะเริ่มต้น และถ้าผู้ป่วยยังคงไม่ได้รับการรักษาอย่างถูกวิธีต่อไปอีกประมาณ 5 ปี จะพบภาวะไตวายในระยะสุดท้าย [2,3] นอกจากนี้โรคเบาหวานยังเป็นสาเหตุก่อให้เกิดอาการแทรกซ้อนและเรื้อรังอีกหลายโรค เช่น หลอดเลือดหัวใจตีบ ความดันโลหิตสูง โรคทางสมอง อัมพาต และโรคเสื่อมทางสมรรถภาพทางเพศ ฯลฯ

ศ.นพ.เทพ หิมะทองคำ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ได้รายงานว่าโลกมีผู้ป่วยโรคเบาหวานชนิดที่เกิดจากร่างกายไม่ตอบสนองต่ออินซูลินอย่างเหมาะสมประมาณ 190 ล้านคน สำหรับประเทศไทยจำนวนของผู้ป่วยเบาหวานชนิดดังกล่าวมีประมาณ 1 ล้านคน [2]

สมุนไพรที่มีสรรพคุณในการรักษาโรคเบาหวานตามตำหรับยาแผนโบราณนั้นถูกบันทึกไว้มากมาย [5,6] สมุนไพรที่จะทำการศึกษาในโครงการฯนี้ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Gynura auriculata* Cass. หรือ *Gynura divaricata* DC. วงศ์ ASTERACEAE (COMPOSITAE) มีชื่อสามัญคือ Purple velvel plant และ Purple passion vine [4] เป็นพืชสมุนไพรที่มาจากประเทศจีน ถูกนำมาปลูกในประเทศไทย หรือมีชื่อที่รู้จักกันเรียกว่า "จินฉี่เหมาเยี่ย" หรือ "ยาเทวดา" เนื่องมาจากมีสรรพคุณทางด้านการรักษาหลายโรค อาทิเช่น โรคเบาหวาน โรคความดันเลือดสูง และโรคหัวใจที่เกิดจากเส้นเลือดอุดตัน เป็นต้น [7] พืชสมุนไพรดังกล่าวขยายพันธุ์ได้รวดเร็ว ด้วยวิธีการปักชำกิ่งหรือตอนกิ่งการปลูกขึ้นได้ในดินทั่วไป ชอบแดด ไม่ชอบน้ำท่วมขัง ปลูกเป็นทั้งไม้ประดับและไม้สมุนไพร ทำให้มีแพร่หลายทั่วไปในหมู่ผู้ชอบพืชสมุนไพร

สมุนไพรที่มีศักยภาพในการลดน้ำตาลในเลือดจึงควรมีการส่งเสริมการศึกษาวิจัยทางเคมีเพื่อนำผลจากการศึกษามาสนับสนุนการใช้สมุนไพรทดแทนยาแผนปัจจุบัน สมุนไพรจะเป็นทางเลือกใหม่ในการรักษาโรคเบาหวาน และเป็นการส่งเสริมให้ผู้ป่วยสามารถพึ่งพาตนเอง

งานวิจัยที่นำเสนอเพื่อขอรับเงินทุนสนับสนุนงานวิจัยในครั้งนี้สอดคล้องกับนโยบายและยุทธศาสตร์การวิจัยของชาติ (พ.ศ. 2551-2553) อีกทั้งยังสอดคล้องกับยุทธศาสตร์การวิจัย

มหาวิทยาลัยแม่โจ้ (พ.ศ. 2551-2553) ในกลยุทธ์การวิจัยที่ 4 เรื่องการพัฒนาและการคุ้มครองภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทย การแพทย์พื้นบ้าน การแพทย์ทางเลือก และสมุนไพร ซึ่งมีแผนงานวิจัยดังนี้ 1. การวิจัยเกี่ยวกับการแพทย์แผนไทย การแพทย์พื้นบ้าน และการแพทย์ทางเลือก เพื่อสร้างองค์ความรู้จากภูมิปัญญาท้องถิ่นและการคุ้มครองภูมิปัญญา 2. การวิจัยเกี่ยวกับสมุนไพรเพื่อประโยชน์ทางการแพทย์และสาธารณสุข

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อทำการสกัดและแยกสารจากใบของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์
2. เพื่อทำการวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณของสารที่มีอยู่ในพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. โดยใช้เทคนิค HPLC เป็นต้น

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถทราบว่าสารสำคัญที่พบในพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. ประกอบด้วยสารอะไรบ้างและทำให้ทราบปริมาณของสารดังกล่าว
2. จากผลการวิจัยทำให้สามารถนำมาเป็นประโยชน์ต่อวงการแพทย์ และสาธารณสุขต่อไปในอนาคต

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

พืชสมุนไพรมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Gynura auriculata* Cass. หรือ *Gynura divaricata* DC. วงศ์ ASTERACEAE (COMPOSITAE) มีชื่อสามัญคือ Purple velvel plant และ Purple passion vine [4] เป็นที่รู้จักกันอย่างแพร่หลาย และมีสรรพคุณในการลดน้ำตาลในเลือดของผู้ป่วยเป็นโรคเบาหวานได้เป็นอย่างดี

ในปี ค.ศ. 1996 พบว่า *Gynura auriculata* Cass. มีสารอัลคาลอยด์ที่เป็นพิษและก่อให้เกิดโรคมะเร็งอยู่ 2 ชนิด [8,9] นอกจากนั้นยังมีรายงานพบกรดอะมิโนที่จำเป็น [10] พบสารอัลเคน แอลกอฮอล์ กรดไขมัน และ เอสเทอร์ ฯลฯ [11,12] อยู่ใน *Gynura auriculata* Cass. นอกจากนั้นยังมีการตรวจพบสารฟลาโวนอยด์ใน *Gynura auriculata* Cass. โดยใช้สารรูตินเป็นสารมาตรฐาน แต่ไม่มีการรายงานเกี่ยวกับโครงสร้างของสารฟลาโวนอยด์นั้น [13] ในปี ค.ศ. 2005 ได้มีการรายงานเกี่ยวกับ *Gynura auriculata* Cass. ว่ามีปริมาณสารไนไตร์อยู่ในระดับที่สามารถกินสมุนไพรนี้ได้ [14] ต่อมาในปีเดียวกันและนักวิจัยกลุ่มเดียวกันได้รายงานว่าสารไนไตร์ที่พบใน *Gynura auriculata* Cass. มีปริมาณสารไนไตร์อยู่ในระดับสูงซึ่งไม่สามารถกินสมุนไพรนี้ได้ [15] นอกจากนั้นยังมีรายงานพบโลหะหนักตะกั่ว อยู่ในระดับสูงกว่าสารมาตรฐาน [16]

ในปี ค.ศ. 2002 ได้มีการศึกษา *Gynura auriculata* Cass. โดยนำใบของ *Gynura auriculata* Cass. มาสกัดด้วย *n*-butanol แล้วนำส่วนสกัดที่ได้มาทดสอบกับหนู พบว่าในส่วนสกัดดังกล่าวสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดหนูได้ และไม่มีผลข้างเคียงอย่างเป็นนัยสำคัญกับหนู [17,18] อย่างไรก็ตามจากการได้ค้นคว้ายังไม่พบรายงานเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของสารที่พบในพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. ที่มีผลต่อการลดระดับน้ำตาลในเลือด

อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

ตัวอย่างพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. เก็บมาจาก ตำบลหนองหาร อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ เรานำพืชสมุนไพรดังกล่าวมาเตรียมเป็นตัวอย่างได้ 4 ตัวอย่าง คือ 1. ใบผสมยอดสดของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. และ 2. ใบผสมยอดสดของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. นำมาอบแห้ง โดยใช้ตู้อบทำการอบตัวอย่างที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง 3. ใบสดของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. และ 4. ใบสดของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. นำมาอบแห้ง โดยใช้ตู้อบทำการอบตัวอย่างที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง

ในงานวิจัยครั้งนี้ เราใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง เพื่อศึกษาหาปริมาณของสารสำคัญ ได้แก่ สารแอลฟา- เรตินอล สารแอลฟา-โทโคฟีรอล กรดแอสคอร์บิก สารไธอามีน และสารไรโบฟอลวิน เป็นต้น

เราได้วางแผนทำการทดลองดังนี้คือ เราแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ครั้ง ซึ่งในแต่ละครั้งใช้ตัวอย่างที่แตกต่างกัน คือ

ครั้งที่ 1 เป็นการทดลองการหาปริมาณของสำคัญ จากตัวอย่างพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. 2 ตัวอย่างคือ

ตัวอย่างที่ 1.1 ใบผสมยอดสดของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass.

ตัวอย่างที่ 1.2 ใบผสมยอดที่อบแห้งของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass.

ครั้งที่ 2 เป็นการทดลองการหาปริมาณของสารสำคัญ จากตัวอย่างพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. 2 ตัวอย่างคือ

ตัวอย่างที่ 2.1 ใบสดของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass.

ตัวอย่างที่ 2.2 ใบที่อบแห้งของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass.

การหาปริมาณของสาร α - Retinol และสาร α - Tocophenol [19,20]

เครื่องมือและอุปกรณ์

	เครื่องมือและอุปกรณ์
1	High Performance Liquid Chromatograph (HPLC)
2	Diode array detector (DAD)
3	Shaking Water Bath
4	เครื่องเขย่า (Shaker)
5	เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
6	เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง
7	คอลัมน์ (Column) ขนาด 5 ไมครอน ความยาว 0.46 μm x25 cm
8	บีกเกอร์พลาสติก (Plastic Beaker) ขนาด 100 mL
9	ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer Flask) ขนาด 125 mL
10	ขวดวัดปริมาตร (Volumetric Flask) ขนาด 50 และ 100 mL
11	Volumetric flask 100 mL.
12	ปิเปต (Volumetric Pipette) ขนาด 2 , 5, 10 และ 20 mL
13	จุกยาง (Stopper) สำหรับปิดปากขวดรูปชมพู่
14	กระบอกฉีดยา (Syringe) ขนาด 5 มิลลิลิตร
15	Nylon Filter Membrane ขนาด 0.45 ไมครอน
16	Dropper

สารเคมี

	สารเคมี
1	Ethanol , C_2H_5OH , A.R. Grade
2	Hexane, 95% , HPLC Grade
3	Methylene Chloride , HPLC Grade
4	Isopropanol , IPA, 2-Propanol , C_3H_7OH , HPLC Grade
5	Potassium Hydroxide , KOH , A.R. Grade
6	Pyrogallol, $C_6H_3(OH)_3$, A.R. Grade
7	สารมาตรฐานวิตามินเอ อะซิเตต
8	สารละลายสำหรับสกัด (Extracting Solution) ผสม Hexane และ Methylene Chloride ให้อัตราส่วน 3 : 1
9	สารละลาย Potassium Hydroxide ความเข้มข้น 12 N
10	สารละลาย Pyrogallol เข้มข้น 1 %ใน Ethanol
11	สารละลายมาตรฐาน α - Retinol ความเข้มข้นระดับ I (α - Retinol Stock Solution I , conc. 100 IU/mL)
12	สารละลายมาตรฐาน α - Retinol ความเข้มข้นระดับ II (α - Retinol Stock Solution II , conc. 2 IU/mL)
13	สารละลายมาตรฐาน α - Tocophenol ความเข้มข้นระดับ I (α - Tocophenol Stock Solution I , conc. 100 IU/mL)
14	สารละลายมาตรฐาน α - Tocophenol ความเข้มข้นระดับ II (α - Tocophenol Stock Solution II , conc. 2 IU/mL)

วิธีการวิจัย

การหาปริมาณของสาร α - retinol และ α - tocophenol จากตัวอย่างทั้งสี่ของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. ใช้วิธีทดลองเหมือนกัน ดังนั้นการเตรียมสารละลายมาตรฐาน การเตรียมสารละลาย mobile phase และการเตรียมสารละลายตัวอย่างจึงใช้วิธีเดียวกัน ใช้สภาวะที่ใช้งานสำหรับเครื่อง HPLC สภาวะเดียวกัน และทำการคำนวณด้วยสูตรเดียวกัน

1. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน α - Retinol

สารละลายมาตรฐาน α - retinol สำหรับใช้งาน ความเข้มข้นระดับ IV (α - retinol working standard solution IV, conc. 1.6 IU/mL) ปิเปตสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นระดับ II (α - retinol stock solution II) 20 mL ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด I25 mL เติมน้ำกลั่น 5 mL และสารละลาย potassium hydroxide ความเข้มข้น 12 N ปริมาตร 3 mL แล้วปิดปากขวดรูปชมพู่ด้วยจุกยางให้แน่น

2. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน α - Tocophenol

สารละลายมาตรฐาน α - tocophenol สำหรับใช้งาน ความเข้มข้นระดับ IV (α - tocophenol working standard solution IV, conc. 1.6 IU/mL) ปิเปตสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นระดับ II (α - tocophenol stock solution II) 20 mL ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 mL เติมน้ำกลั่น 5 mL และสารละลาย potassium hydroxide ความเข้มข้น 12 N ปริมาตร 3 mL แล้วปิดปากขวดรูปชมพู่ด้วยจุกยางให้แน่น

3. การเตรียม Mobile phase สำหรับการหาปริมาณของสาร α - Retinol

Hexane : Isopropanol (90:10)

4. การเตรียมสารละลายและตัวอย่าง

4.1 ชั่งตัวอย่าง 5 กรัม ใส่ในบีกเกอร์พลาสติกขนาด 100 mL ละลายตัวอย่างด้วยน้ำอุ่น 50 - 60 °C ประมาณ 60 mL เทใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 mL ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

4.2 ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 5 mL ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 mL เติมสารละลาย pyrogallol เข้มข้น 1%ใน ethanol 15 mL เขย่าให้เข้ากัน และเติมสารละลาย potassium hydroxide ความเข้มข้น 12 N 3 mL เขย่าให้เข้ากัน แล้วปิดด้วยจุกยางให้แน่น

5. กระบวนการ Saponification และการสกัด

5.1 นำสารละลายมาตรฐานและสารละลายตัวอย่าง ใส่ลงใน Shaking water bath โดยตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 60 °C นาน 15 นาที จึงนำออกและตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

5.2 เติมน้ำกลั่นปริมาตร 7 mL และปิเปต Extracting solution 25 mL ปิดปากขวดรูปชมพู่ด้วยจุกยางให้แน่น แล้วนำไปเขย่าด้วย Shaker นาน 1 นาที

5.3 เติมน้ำกลั่น 60 mL โดยชะล้างด้านข้างของขวดรูปชมพู่ให้ทั่ว ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 10 นาทีเพื่อให้เกิดการแยกชั้น

5.4 ดูดสารละลายชั้นบนด้วยกระบอกฉีดยาแล้วกรองผ่าน Nylon Filter Membrane ขนาด 0.45 ไมครอน ใส่ลงใน Vial ขนาด 1-5 mL แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณ α - retinol ด้วยเครื่อง HPLC

5.5 กรองสารละลายมาตรฐาน α - retinol สำหรับใช้งานผ่าน Nylon Filter Membrane ขนาด 0.45 ไมครอน ใส่ลงใน Vial ขนาด 2 mL แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณ α - retinol ด้วยเครื่อง HPLC

การวิเคราะห์สารมาตรฐาน โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง สภาวะที่ใช้งานสำหรับเครื่อง HPLC เป็นดังนี้

ตัวแปร	สภาวะที่เหมาะสม
คอลัมน์	C18 ; 5 µm, 4.0x150 mm
ประเภทของเครื่องตรวจวัด	Diode array detector (DAD)
ความยาวคลื่นที่ตรวจวัด	335 นาโนเมตร (nm)
อุณหภูมิที่ทดสอบ	40 องศาเซลเซียส ± 1 องศาเซลเซียส
ปริมาตรของสารที่ฉีดเข้าเครื่อง	100 ไมโครลิตร (µL)
อัตราการไหล	2 มิลลิลิตรต่อนาที (mL/min)
ระยะเวลาในการวิเคราะห์ทั้งสิ้น (total time)	3.5 นาที (min)
เวลารีเทนชันของ α - retinol	1.435 นาที (min)
เวลารีเทนชันของ α - tocophenol	4.309 นาที (min)
สัดส่วนของเฟสเคลื่อนที่	Hexane:Isopropanol (90:10)

การคำนวณ

สามารถคำนวณได้จากสูตร ดังนี้

$$\text{Vitamin A, IU/100g} = \frac{C \times V_E \times V_F \times 100 \times D}{Wt \times V_U}$$

C = ความเข้มข้นของตัวอย่างซึ่งได้จากการอ่านเทียบกับกราฟมาตรฐาน, IU/mL

V_E = ปริมาตรของ Extracting Solution, mL (25)

V_F = ปริมาตรของตัวอย่างที่ละลายแล้วทั้งหมด, mL (60)

V_U = ปริมาตรของตัวอย่างซึ่งละลายแล้วที่ใช้ในการวิเคราะห์, mL (5)

W_t = น้ำหนักตัวอย่าง , g

D = dilution factor (1 จำนวนเท่า)

การหาปริมาณของสาร Ascorbic acid [21,22]

เครื่องมือและอุปกรณ์

	เครื่องมือและอุปกรณ์
1	100 mL. Volumetric flask class **A**
2	100 mL. Amber volumetric flask class A
3	2 mL. Amber vial
4	Bulk filter
5	Whatman No.4 filter paper or equivalent
6	0.45 µm nylon membrane filter
7	HPLC System include quaternary pump, autosample, C_{18} column (3.9 nm,id × 300 nm) or equivalent and UV-detector

สารเคมี

	สารเคมี
1	*m*-Phosphoric Ascorbic Acid
2	85% *o*-Phosphoric Acid (o-H_3PO_4), A.R. Grade
4	Potassium Dihydrogen Phosphate (KH_2PO_4)
5	Ascorbic Acid, Standard Grade, SIGMA
6	Deionized Water

วิธีการวิจัย

การหาปริมาณของสาร ascorbic acid จากตัวอย่างทั้งสี่ชนิดของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. โดยมีวิธีการเตรียมสารละลายมาตรฐาน และการสกัดตัวอย่าง ดังต่อไปนี้

1. การสกัดตัวอย่าง

1.1 ชั่งตัวอย่างสด 5.0000 กรัม (สำหรับตัวอย่างแห้ง 3.0000 กรัม) ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 mL

1.2 เติม 3% *m*-phosphoric ascorbic acid 50 mL เขย่าให้เข้ากัน

1.3 จากนั้นนำไปเขย่าด้วยเครื่องอัลตราโซนิกส์ 5 นาที แล้วนำมาปรับปริมาตรด้วย 3 % *m*-phosphoric ascorbic acid ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 mL

1.4 กรองสารละลายที่ได้นี้ผ่านกระดาษกรอง Nylon membrane filter ขนาด 0.45 µm ใส่ใน vial ขนาด 2 mL

2. การเตรียม Mobile phase หรือ Buffer solntion

ปิเปต 85% *o*-phosphoric acid (*o*-H_3PO_4) 0.4 mL ในน้ำ 100 mL จากนั้นเติม potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4) 0.0041 กรัม คนให้เข้ากัน แล้วปรับปริมาตร (ควรเตรียมใหม่ทุกครั้งที่ใช้ในการทดลอง)

3. สารละลาย 3% *m*-Phosphoric ascorbic acid

ชั่ง *m*-phosphoric ascorbic acid (*m*-H_3PO_4) 3 g ละลายด้วยน้ำในขวดวัดปริมาตร 100 mL

4. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Standard stock solution

ความเข้มข้น 1000 ppm ชั่งสารมาตรฐานแต่ละชนิด ให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน จำนวนชนิดละ 0.1 กรัม(ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ละลายใน 3% m-phosphoric ascorbic acid ปรับปริมาตรเป็น 100 ml สารละลายนี้จะมีความเข้มข้น 1000 µg/ml

4.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน standard intermediate solution (0.5, 5, 10, 20, 40 µg/mL)

4.1.1 ปิเปต 1 mL จาก Standard stock solution ลงในขวดปรับปริมาตร ขนาด 25 ml ปรับปริมาตรด้วย 3% *m*-phosphoric ascorbic acid สารละลายที่ได้นี้มีความเข้มข้น 40 µg/mL

4.1.2 ปิเปต 5, 2.5, 1.25, 0.125 mL จากสารละลายที่เตรียมได้ในข้อ 4.1.1 ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 mL ปรับปริมาตรด้วย 3% *m*-phosphoric ascorbic acid สารละลายที่ได้นี้มีความเข้มข้น 20, 10, 5, 0.5 µg/mL

การวิเคราะห์สารมาตรฐาน โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง สภาวะที่ใช้งานสำหรับเครื่อง HPLC เป็นดังนี้

ตัวแปร	สภาวะที่เหมาะสม
คอลัมน์	C18 ; 5 µm, 4.0x150 mm
สัดส่วนของเฟสเคลื่อนที่	**Buffer solution** (*o*-phosphoric acid solution : potassium dihydrogen phosphate)
อัตราการไหล	0.8 mL/min
ปริมาตรของสารที่ฉีดเข้าเครื่อง	10 µL
ประเภทของเครื่องตรวจวัด	Diode array detector (DAD)
ความยาวคลื่นที่ตรวจวัด	244 nm
ระยะเวลาในการวิเคราะห์ทั้งสิ้น	6 นาที
เวลารีเทนชัน	3.729 นาที

การคำนวณ

1.1 ascorbic acid content in sample

$A = [C \times V \times F]/[W]$

A = ascorbic acid content (mg/kg)

C = ascorbic acid content from standard curve (µg/mL)

V = sample volume before diluted (mL) = 50 mL

F = dilution factor = 1 จำนวนเท่า

W = sample weight (g)

การหาปริมาณของสาร Thiamine และสาร Riboflavin [23,24]

เครื่องมือและอุปกรณ์

	เครื่องมือและอุปกรณ์
1	100 mL. Volumetric Flask Class A
2	100 mL. Amber Volumetric Flask Class A
3	2 mL. Amber Vial
4	Bulk Filter
5	Whatman No.4 filter paper or equivalent
6	0.45 µm Nylon membrane filter
7	HPLC System include quaternary pump, autosample, C_{18} column (3.9 nm,id × 300 nm) or equivalent and UV-detector

สารเคมี

	สารเคมี
1	Acetonitrile, A.R. Grade
2	Acetic acid, A.R. Grade
4	Thiamine, Standard Grade, Sigma
5	Riboflavin, Standard Grade, Sigma
6	Deionized water

วิธีการวิจัย

การหาปริมาณของสาร thiamine และของสาร riboflavin จากตัวอย่างทั้งสี่ของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. ใช้วิธีทดลองเหมือนกัน ดังนั้นการเตรียมสารละลายมาตรฐาน และการเตรียมสารละลายตัวอย่างจึงใช้วิธีเดียวกัน ใช้สภาวะที่ใช้งานสำหรับเครื่อง HPLC สภาวะเดียวกัน และทำการคำนวณด้วยสูตรเดียวกัน

1. การเตรียมตัวอย่าง

1.1 ชั่งตัวอย่าง 5.0000 กรัม บดให้ละเอียด ใส่ในขวดชมพู่สีชา

1.2 เติม extracting solution 50 ml

1.3 นำขวดชมพู่สีชาไปใส่ในเครื่องอัลตราโซนิกส์ 30 นาที ปรับปริมาตรด้วย extracting solution 100 ml

1.4 กรองด้วย filter ขนาด 0.45 μm แล้วฉีดเข้าเครื่อง HPLC

2. การเตรียม Extracting Solution

Acetronitrile: Acetic Acid: Distilled water (5:1:94)

3. การเตรียม Mobile Phase

Extracting Solution: Methanol (1:1)

4. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

Stock standard ชั่ง 0.1000 กรัม ละลายด้วย mobile phase ในขวดวัดปริมาตร 100 mL จะได้ความเข้มข้น 1000 μg/mL

4.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Standard intermediate solution (0.5, 5, 10, 20, 40 μg/mL)

4.1.1 ปิเปต 1 mL จาก standard stock solution ลงในขวดปรับปริมาตร ขนาด 25 mL ปรับปริมาตรด้วย mobile phase สารละลายที่ได้นี้มีความเข้มข้น 40 μg/mL

4.1.2 ปิเปต 5, 2.5, 1.25, 0.125 ml จากสารละลายที่เตรียมได้ในข้อ 4.1.1 ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 ml ปรับปริมาตรด้วย mobile phase สารละลายที่ได้นี้มีความเข้มข้น 20, 10, 5, 0.5 μg/mL

การวิเคราะห์สารมาตรฐาน โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง สภาวะที่ใช้งานสำหรับเครื่อง HPLC เป็นดังนี้

ตัวแปร	สภาวะที่เหมาะสม
สัดส่วนของเฟสเคลื่อนที่	Extracting Solution: Methanol (1:1)
อัตราการไหล	1 mL/min
ความยาวคลื่นที่ตรวจวัด	280 nm
ปริมาตรของสารที่ฉีดเข้าเครื่อง	5 µL
ประเภทของเครื่องตรวจวัด	Diode Array Detector (DAD)
คอลัมน์	C18 ; 5 µm, 4.0x150 mm
เวลารีเทนชันของ Thiamine	1.002 min
เวลารีเทนชันของ Riboflavin	2.369 min

การคำนวณ

1. Thiamine content in sample

   A = [C×V×F]/[W]

   A = thiamine content (mg/kg)

   C = thiamine content from standard curve (µg/mL)

   V = sample volume before diluted (mL) = 50 mL

   F = dilution faetor = 1 จำนวนเท่า

   W = sample weight (g)

ระยะเวลาที่ใช้ในการดำเนินงานตลอดโครงการฯ 1 ปี
(เป็นโครงงานวิจัยต่อเนื่องเป็นระยะเวลา 2 ปี)

สถานที่ดำเนินงาน ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ ประเทศไทย
สถาบันบริการตรวจสอบคุณภาพและมาตรฐานผลิตภัณฑ์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

ผลการวิจัย

งานวิจัยครั้งนี้ได้ทำการศึกษาสารสำคัญจากพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. ซึ่งเก็บมาจาก ตำบลหนองหาร อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ โดยนำพืชสมุนไพรดังกล่าวมาเตรียมตัวอย่างได้ 4 ตัวอย่าง คือ 1. ใบและยอดสดของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. และ 2. ใบและยอดสดของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. นำมาอบแห้ง โดยใช้ตู้อบทำการอบตัวอย่างที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง 3. ใบสดของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. และ 4. ใบสดของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. นำมาอบแห้ง โดยใช้ตู้อบทำการอบตัวอย่างที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง

เราได้วางแผนทำการทดลอง โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ครั้ง ซึ่งในแต่ละครั้งใช้ตัวอย่างที่แตกต่างกัน คือ

ครั้งที่ 1 เป็นการทดลองการหาปริมาณของสำคัญ จากตัวอย่างพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. 2 ตัวอย่างคือ

ตัวอย่างที่ 1.1 ใบผสมยอดสดของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass.

ตัวอย่างที่ 1.2 ใบผสมยอดที่อบแห้งของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass.

ครั้งที่ 2 เป็นการทดลองการหาปริมาณของสารสำคัญ จากตัวอย่างพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. 2 ตัวอย่างคือ

ตัวอย่างที่ 2.1 ใบสดของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass.

ตัวอย่างที่ 2.2 ใบที่อบแห้งของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass.

เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงถูกนำมาใช้ เพื่อหาปริมาณสารสำคัญ ได้แก่ สารแอลฟา-เรดินอล สารแอลฟา-โทโคฟีรอล กรดแอสคอร์บิก สารไธอามีน และสารไรโบฟอลวิน

การหาปริมาณสารแอลฟา-เรตินอล (α - Retinol) ครั้งที่ 1

การหาปริมาณของสาร แอลฟา-เรตินอล ครั้งที่ 1 โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานแอลฟา-เรตินอล (α - retinol) ต่อน้ำหนักตัวอย่าง 5.0000 กรัม

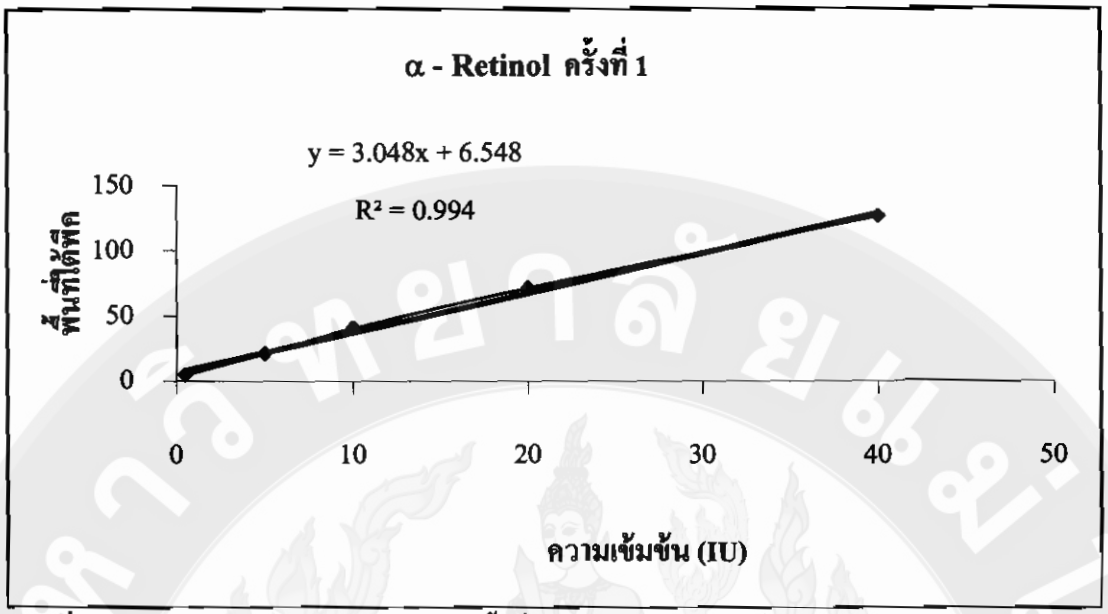
การสร้างกราฟมาตรฐาน (Callibration curves)

เตรียมสารละลายมาตรฐานแอลฟา-เรตินอล เข้มข้น 0.5 ถึง 40 พีพีเอ็ม นำมาทำปฏิกิริยา Saponification จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณของสารมาตรฐานแอลฟา-เรตินอล ด้วยเครื่อง HPLC ซึ่งใช้ดีเทคเตอร์ คือ Diode Array Detector (DAD) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 335 นาโนเมตร ดังตารางที่ 1 และภาพที่ 1

ตารางที่ 1 ค่าพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐานแอลฟา-เรตินอล ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ครั้งที่ 1

ครั้งที่ 1	
สารแอลฟา-เรตินอล	
ความเข้มข้น (ppm)	พื้นที่ใต้พีค
0.5	4.44
5	20.83
10	40.32
20	71.44
40	125.87

จากกราฟมาตรฐานที่ได้จากการทดลอง โดยสมการที่ได้เท่ากับ y = 3.048x + 6.548



ภาพที่ 1 กราฟมาตรฐานแอลฟา-เรตินอล ครั้งที่ 1 (วัดค่าการดูดกลืนแสง 335 นาโนเมตร)

การหาปริมาณสารแอลฟา-เรตินอล (α - Retinol) ของสารสกัดตัวอย่างจากใบผสมยอด

นำสารตัวอย่างที่สกัดได้จำนวน 2 ชนิด มาหาปริมาณสารแอลฟา-เรตินอล โดยนำค่าพื้นที่ใต้พีคของสารสกัดเทียบกับกราฟมาตรฐาน แอลฟา-เรตินอล (ภาพที่ 1) ความเข้มข้นของสารตัวอย่างซึ่งได้จากการอ่านเทียบกับกราฟมาตรฐาน นำไปแทนค่าในสูตรการคำนวณหาปริมาณสารแอลฟา-เรตินอล รายงานผลปริมาณสารแอลฟา-เรตินอลต่อน้ำหนักพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. ตัวอย่างที่ 1.1 (ใบผสมยอดสด) 5.0000 กรัม และตัวอย่างที่ 1.2 (ใบผสมยอดอบแห้ง) 5.0000 กรัม ดังแสดงในตารางที่ 2

จากการนำตัวอย่างที่ 1.1 และ 1.2 ไปทำการทดลองซ้ำตัวอย่างละ 2 ครั้ง พบว่าเวลารีเทนชันของสารแอลฟา-เรตินอล เท่ากับ 1.435 นาที แต่ไม่พบพื้นที่ใต้พีค และค่าความเข้มข้นของตัวอย่างทั้งสองมีค่าเท่ากับศูนย์ (IU/mL) ดังนั้นเมื่อนำค่าดังกล่าวไปคำนวณในสูตร พบว่าปริมาณสารแอลฟา-เรตินอลที่มีอยู่ในตัวอย่างทั้งสองมีค่าเท่ากับศูนย์เช่นเดียวกัน

ตารางที่ 2 ปริมาณของสารแอลฟา-เรตินอล ในสารตัวอย่าง ครั้งที่ 1 (n=2)*

สารที่วิเคราะห์	ตัวอย่างที่ 1.1		ตัวอย่างที่ 1.2		หน่วย
	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	
α - Retinol	5.0000	ไม่พบสาร	5.0000	ไม่พบสาร	mg/kg

* วิธีการคำนวณ แสดงไว้ในวิธีการวิจัย

การหาปริมาณสารแอลฟา-เรตินอล (α - Retinol) ครั้งที่ 2

การหาปริมาณของสารแอลฟา-เรตินอล ครั้งที่ 2 โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานแอลฟา-เรตินอล ต่อน้ำหนักตัวอย่าง 5.0000 กรัม

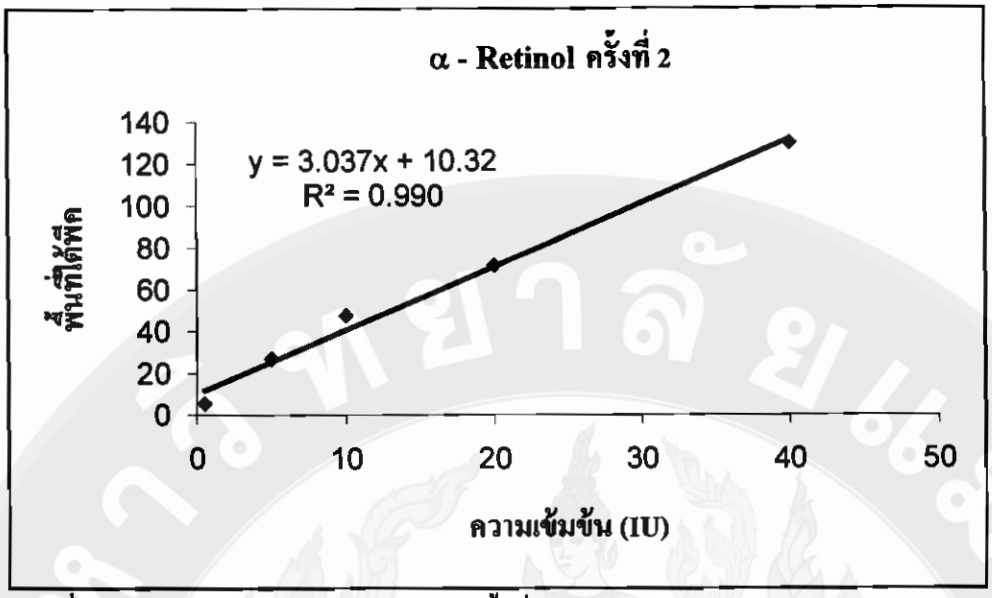
การสร้างกราฟมาตรฐาน (Callibration curves)

เตรียมสารละลายมาตรฐานแอลฟา-เรตินอล เข้มข้น 0.5 ถึง 40 พีพีเอ็ม นำมาทำปฏิกิริยา Saponification จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณของสารแอลฟา-เรตินอล ด้วยเครื่อง HPLC ซึ่งใช้ดีเทคเตอร์ คือ Diode Array Detector (DAD) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 335 นาโนเมตร ดังตารางที่ 3 และภาพที่ 2

ตารางที่ 3 ค่าพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐานแอลฟา-เรตินอล ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ครั้งที่ 2

ครั้งที่ 2	
สารแอลฟา-เรตินอล	
ความเข้มข้น (ppm)	พื้นที่ใต้พีค
0.5	5.44
5	26.83
10	47.32
20	71.44
40	129.87

จากกราฟมาตรฐานที่ได้จากการทดลอง โดยสมการที่ได้เท่ากับ y = 3.037x + 10.320



ภาพที่ 2 กราฟมาตรฐานแอลฟา-เรตินอล ครั้งที่ 2 (วัดค่าการดูดกลืนแสง 335 นาโนเมตร)

การหาปริมาณสารแอลฟา-เรตินอล (α - Retinol) ของสารสกัดตัวอย่างจากใบ

นำสารตัวอย่างที่สกัดได้จำนวน 2 ชนิด มาหาปริมาณสารแอลฟา-เรตินอล โดยนำค่าพื้นที่ใต้พีคของสารสกัดเทียบกับกราฟมาตรฐานแอลฟา-เรตินอล (ภาพที่ 2) ความเข้มข้นของสารตัวอย่างซึ่งได้จากการอ่านเทียบกับกราฟมาตรฐาน นำไปแทนค่าในสูตรการคำนวณหาปริมาณสารแอลฟา-เรตินอล รายงานผลปริมาณวิตามินเอต่อน้ำหนักพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. ตัวอย่างที่ 2.1 (ใบสด) 5.0000 กรัม และ ตัวอย่างที่ 2.2 (ใบอบแห้ง) 5.0000 กรัม ดังแสดงในตารางที่ 4

จากการนำตัวอย่างที่ 2.1 และ 2.2 ไปทำการทดลองซ้ำตัวอย่างละ 2 ครั้ง พบว่าเวลารีเทนชันของสารแอลฟา-เรตินอล เท่ากับ 1.435 นาที แต่ไม่พบพื้นที่ใต้พีค และค่าความเข้มข้นของตัวอย่างทั้งสองมีค่าเท่ากับศูนย์ (IU/mL) ดังนั้นเมื่อนำค่าดังกล่าวไปคำนวณในสูตร พบว่าปริมาณสารแอลฟา-เรตินอล ที่มีอยู่ในตัวอย่างทั้งสองมีค่าเท่ากับศูนย์เช่นเดียวกัน

ตารางที่ 4 ปริมาณของสารแอลฟา-เรตินอล ในสารตัวอย่าง ครั้งที่ 2 (n=2)*

สารที่วิเคราะห์	ตัวอย่างที่ 2.1		ตัวอย่างที่ 2.2		หน่วย
	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	
α - Retinol	5.0000	ไม่พบสาร	5.0000	ไม่พบสาร	mg/kg

* วิธีการคำนวณ แสดงไว้ในวิธีการวิจัย

การหาปริมาณสารแอลฟา-โทโคฟีรอล (α - Tocopherol) ครั้งที่ 1

การหาปริมาณของสารแอลฟา-โทโคฟีรอล ครั้งที่ 1 โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานแอลฟา-โทโคฟีรอล ต่อน้ำหนักตัวอย่าง 5.0000 กรัม

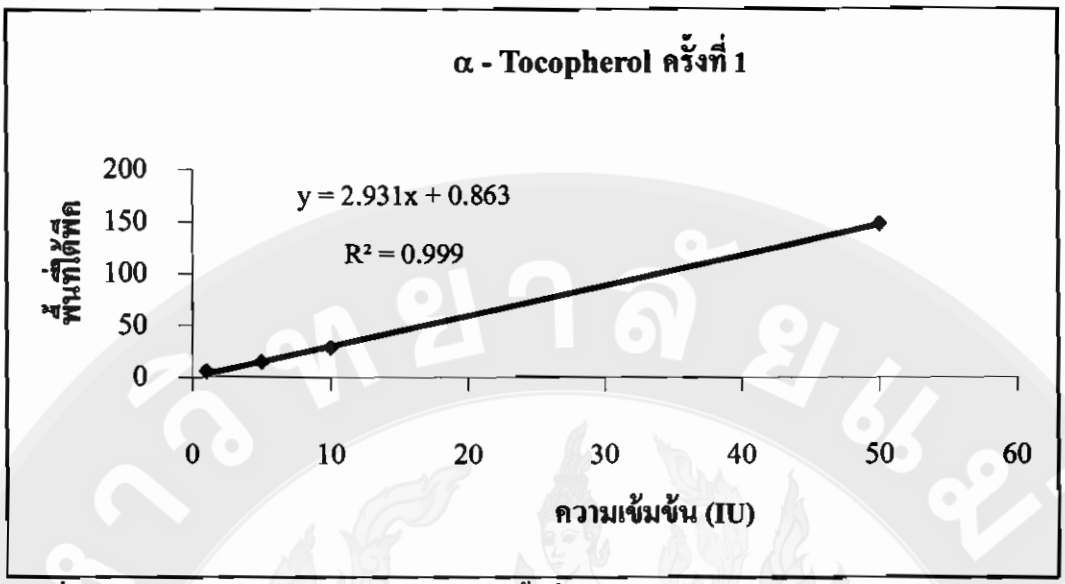
การสร้างกราฟมาตรฐาน (Callibration curves)

เตรียมสารละลายมาตรฐานแอลฟา-โทโคฟีรอล เข้มข้น 1 ถึง 50 พีพีเอ็ม นำมาทำปฏิกิริยา Saponification จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณของสารแอลฟา-โทโคฟีรอล ด้วยเครื่อง HPLC ซึ่งใช้ดีเทคเตอร์ คือ Diode Array Detector (DAD) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 335 นาโนเมตร ดังตารางที่ 5 และภาพที่ 3

ตารางที่ 5 ค่าพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐานแอลฟา-โทโคฟีรอลที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ครั้งที่1

ครั้งที่ 1	
แอลฟา-โทโคฟีรอล	
ความเข้มข้น (ppm)	พื้นที่ใต้พีค
1	5.77
5	14.95
10	28.41
50	147.82

จากกราฟมาตรฐานที่ได้จากการทดลอง โดยสมการที่ได้เท่ากับ $y = 2.931x + 0.863$



ภาพที่ 3 กราฟมาตรฐานแอลฟา-โทโคฟีรอล ครั้งที่ 1 (วัดค่าการดูดกลืนแสง 335 นาโนเมตร)

การหาปริมาณสารแอลฟา-โทโคฟีรอล (α - Tocopherol) ของสารสกัดตัวอย่างจากใบผสมยอด

นำสารตัวอย่างที่สกัดได้จำนวน 2 ชนิด มาหาปริมาณสารแอลฟา-โทโคฟีรอล โดยนำค่าพื้นที่ใต้พีคของสารสกัดเทียบกับกราฟมาตรฐาน แอลฟา-โทโคฟีรอล (ภาพที่ 3) ความเข้มข้นของสารตัวอย่างซึ่งได้จากการอ่านเทียบกับกราฟมาตรฐาน นำไปแทนค่าในสูตรการคำนวณหาปริมาณสารแอลฟา-โทโคฟีรอล รายงานผลปริมาณสารแอลฟา-โทโคฟีรอลต่อน้ำหนักพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. ตัวอย่างที่ 1.1 (ใบผสมยอดสด) 5.0000 กรัม และตัวอย่างที่ 1.2 (ใบผสมยอดอบแห้ง) 5.0000 กรัม ดังแสดงในตารางที่ 6

จากการนำตัวอย่างที่ 1.1 และ 1.2 ไปทำการทดลองซ้ำตัวอย่างละ 2 ครั้ง พบว่าเวลารีเทนชันของสารแอลฟา-โทโคฟีรอล เท่ากับ 4.309 นาที แต่ไม่พบพื้นที่ใต้พีค และค่าความเข้มข้นของตัวอย่างทั้งสองมีค่าเท่ากับศูนย์ (IU/mL) ดังนั้นเมื่อนำค่าดังกล่าวไปคำนวณในสูตร พบว่าปริมาณสารแอลฟา-โทโคฟีรอล ที่มีอยู่ในตัวอย่างทั้งสองมีค่าเท่ากับศูนย์เช่นเดียวกัน

ตารางที่ 6 ปริมาณของสารแอลฟา-โทโคฟีรอล ในสารตัวอย่าง ครั้งที่ 1 (n=2)*

สารที่วิเคราะห์	ตัวอย่างที่ 1.1		ตัวอย่างที่ 1.2		หน่วย
	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	
α - Tocopherol	5.0000	ไม่พบสาร	5.0000	ไม่พบสาร	mg/kg

* วิธีการคำนวณ แสดงไว้ในวิธีการวิจัย

การหาปริมาณสารแอลฟา-โทโคฟีรอล (α - Tocopherol) ครั้งที่ 2

การหาปริมาณของสารแอลฟา-โทโคฟีรอล ครั้งที่ 2 โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานแอลฟา-โทโคฟีรอล (α - tocopherol) ต่อน้ำหนักตัวอย่าง 5.0000 กรัม

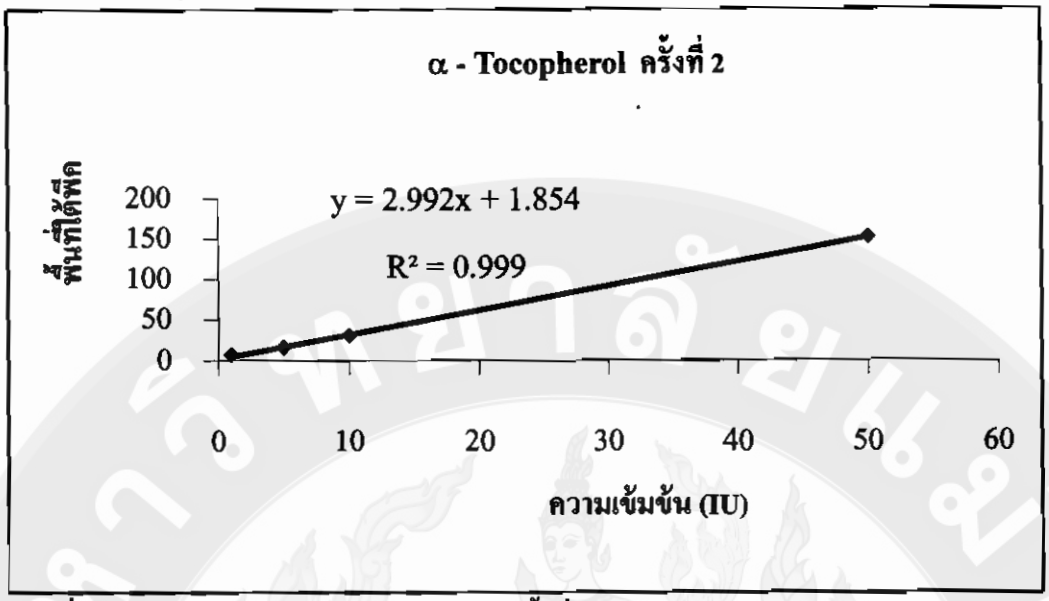
การสร้างกราฟมาตรฐาน (Callibration curves)

เตรียมสารละลายมาตรฐานแอลฟา-โทโคฟีรอล เข้มข้น 1 ถึง 50 พีพีเอ็ม นำมาทำปฏิกิริยา Saponification จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณของสารแอลฟา-โทโคฟีรอล ด้วยเครื่อง HPLC ซึ่งใช้ดีเทคเตอร์ คือ Diode Array Detector (DAD) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 335 นาโนเมตร ดังตารางที่ 7 และภาพที่ 4

ตารางที่ 7 ค่าพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐานแอลฟา-โทโคฟีรอลที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ครั้งที่ 2

ครั้งที่ 2	
แอลฟา-โทโคฟีรอล	
ความเข้มข้น (ppm)	พื้นที่ใต้พีค
1	6.77
5	15.95
10	30.41
50	151.82

จากกราฟมาตรฐานที่ได้จากการทดลอง โดยสมการที่ได้เท่ากับ $y = 2.992x + 1.854$



ภาพที่ 4 กราฟมาตรฐานแอลฟา-โทโคฟีรอล ครั้งที่ 2 (วัดค่าการดูดกลืนแสง 335 นาโนเมตร)

การหาปริมาณสารแอลฟา-โทโคฟีรอล (α - Tocopherol) ของสารสกัดตัวอย่างจากใบ

นำสารตัวอย่างที่สกัดได้จำนวน 2 ชนิด มาหาปริมาณสารแอลฟา-โทโคฟีรอล โดยนำค่าพื้นที่ใต้พีคของสารสกัดเทียบกับกราฟมาตรฐาน แอลฟา-โทโคฟีรอล (ภาพที่ 4) ความเข้มข้นของสารตัวอย่างซึ่งได้จากการอ่านเทียบกับกราฟมาตรฐาน นำไปแทนค่าในสูตรการคำนวณหาปริมาณสารแอลฟา-โทโคฟีรอล รายงานผลปริมาณวิตามินอีต่อน้ำหนักพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. ตัวอย่างที่ 2.1 (ใบสด) 5.0000 กรัม และ ตัวอย่างที่ 2.2 (ใบอบแห้ง) 5.0000 กรัม ดังแสดงในตารางที่ 8

จากการนำตัวอย่างที่ 2.1 และ 2.2 ไปทำการทดลองซ้ำตัวอย่างละ 2 ครั้ง พบว่าเวลารีเทนชันของสารแอลฟา-โทโคฟีรอล เท่ากับ 4.309 นาที แต่ไม่พบพื้นที่ใต้พีค และค่าความเข้มข้นของตัวอย่างทั้งสองมีค่าเท่ากับศูนย์ (IU/mL) ดังนั้นเมื่อนำค่าดังกล่าวไปคำนวณในสูตร พบว่าปริมาณสารแอลฟา-โทโคฟีรอล ที่มีอยู่ในตัวอย่างทั้งสองมีค่าเท่ากับศูนย์เช่นเดียวกัน

ตารางที่ 8 ปริมาณของสารแอลฟา-โทโคฟีรอล ในสารตัวอย่าง ครั้งที่ 2 (n=2)*

สารที่วิเคราะห์ ครั้งที่ 2	ตัวอย่างที่ 2.1		ตัวอย่างที่ 2.2		หน่วย
	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	
α - Tocopherol	5.0000	ไม่พบสาร	5.0000	ไม่พบสาร	mg/kg

* วิธีการคำนวณ แสดงไว้ในวิธีการวิจัย

การหาปริมาณกรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid) ครั้งที่ 1

การหาปริมาณของกรดแอสคอร์บิก ครั้งที่ 1 โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก ต่อน้ำหนักตัวอย่างสด 5.0000 กรัม และน้ำหนักตัวอย่างอบแห้ง 3.0000 กรัม

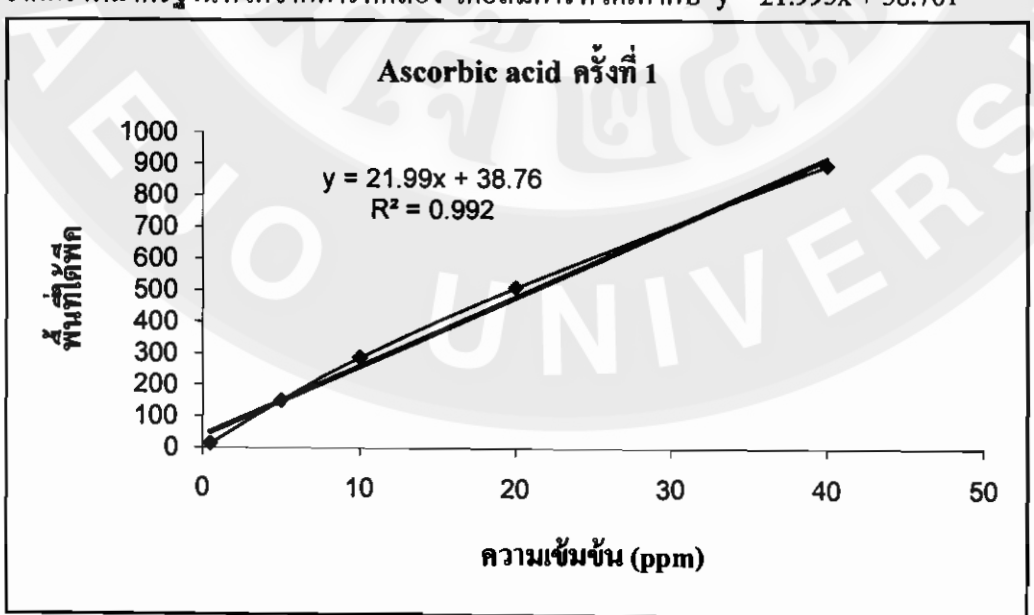
การสร้างกราฟมาตรฐาน (Callibration curves)

เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก เข้มข้น 0.5 ถึง 40 พีพีเอ็ม จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณของกรดแอสคอร์บิก ด้วยเครื่อง HPLC ซึ่งใช้ดีเทคเตอร์ คือ Diode Array Detector (DAD) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 244 นาโนเมตร ดังตารางที่ 9 และภาพที่ 5

ตารางที่ 9 ค่าพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ครั้งที่ 1

ครั้งที่ 1	
กรดแอสคอร์บิก	
ความเข้มข้น (ppm)	พื้นที่ใต้พีค
0.5	12.86
5	149.48
10	286.11
20	509.07
40	896.79

จากกราฟมาตรฐานที่ได้จากการทดลอง โดยสมการที่ได้เท่ากับ $y = 21.993x + 38.761$



ภาพที่ 5 กราฟมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก ครั้งที่ 1 (วัดค่าการดูดกลืนแสง 244 นาโนเมตร)

การหาปริมาณกรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid) ของสารสกัดตัวอย่างจากใบผสมยอด

นำสารตัวอย่างที่สกัดได้จำนวน 2 ชนิด มาหาปริมาณกรดแอสคอร์บิก โดยนำค่าพื้นที่ใต้พีคของสารสกัดเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก (ภาพที่ 5) ความเข้มข้นของสารตัวอย่างซึ่งได้จากการอ่านเทียบกับกราฟมาตรฐาน นำไปแทนค่าในสูตรการคำนวณหาปริมาณกรดแอสคอร์บิก รายงานผลปริมาณกรดแอสคอร์บิกต่อน้ำหนักพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. ตัวอย่างที่ 1.1 (ใบผสมยอตสด) 5.0000 กรัม และตัวอย่างที่ 1.2 (ใบผสมยอดอบแห้ง) 3.0000 กรัม ดังแสดงในตารางที่ 10

จากการนำตัวอย่างที่ 1.1 ไปทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง พบว่าเวลารีเทนชันของกรดแอสคอร์บิกจากตัวอย่างทั้งสองเท่ากับ 3.698 นาที และ 3.785 นาที ตามลำดับ พบพื้นที่ใต้พีค ซึ่งมีค่าความเข้มข้นของตัวอย่างทั้งสอง และนำค่าดังกล่าวไปคำนวณในสูตร พบว่าปริมาณกรดแอสคอร์บิก ที่มีอยู่ในตัวอย่างทั้งสองมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 18.96 mg/kg

จากการนำตัวอย่างที่ 1.2 ไปทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง พบว่าเวลารีเทนชันของกรดแอสคอร์บิกจากตัวอย่างทั้งสองเท่ากับ 3.747 นาที และ 3.687 นาที ตามลำดับ พบพื้นที่ใต้พีค ซึ่งมีค่าความเข้มข้นของตัวอย่าง และนำค่าดังกล่าวไปคำนวณในสูตร พบว่าปริมาณกรดแอสคอร์บิก ที่มีอยู่ในตัวอย่างทั้งสองมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 138.77 mg/kg

ตารางที่ 10 ปริมาณของกรดแอสคอร์บิกในสารตัวอย่าง ครั้งที่ 1 (n=2)*

สารที่วิเคราะห์	ตัวอย่างที่ 1.1		ตัวอย่างที่ 1.2		หน่วย
	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	
Ascorbic acid	5.0000	18.96	3.0000	138.77	mg/kg

* วิธีการคำนวณ แสดงไว้ในวิธีการวิจัย

การหาปริมาณกรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid) ครั้งที่ 2

การหาปริมาณของกรดแอสคอร์บิก ครั้งที่ 2 โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก ต่อน้ำหนักตัวอย่าง 5.0000 กรัม และน้ำหนักตัวอย่างอบแห้ง 3.0000 กรัม

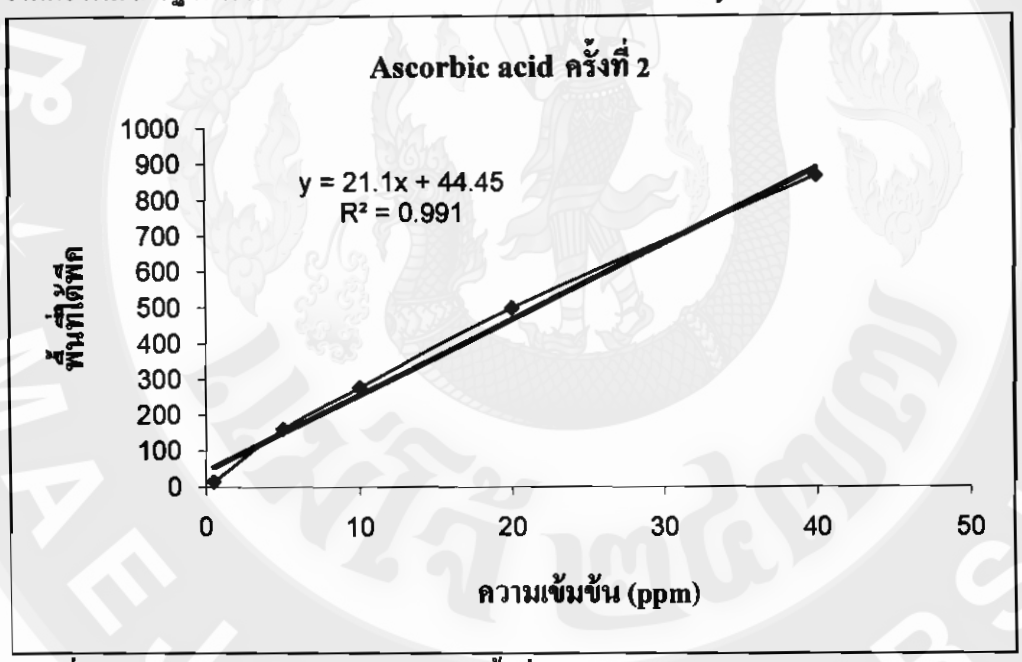
การสร้างกราฟมาตรฐาน (Callibration curves)

เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก เข้มข้น 0.5 ถึง 40 พีพีเอ็ม จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณของวิตามินซี ด้วยเครื่อง HPLC ซึ่งใช้ดีเทคเตอร์ คือ Diode Array Detector (DAD) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 244 นาโนเมตร ดังตารางที่ 11 และภาพที่ 6

ตารางที่ 11 ค่าพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ครั้งที่ 2

ครั้งที่ 2	
กรดแอสคอร์บิก	
ความเข้มข้น (ppm)	พื้นที่ใต้พีค
0.5	14.86
5	159.48
10	276.11
20	498.07
40	866.79

จากกราฟมาตรฐานที่ได้จากการทดลอง โดยสมการที่ได้เท่ากับ y = 21.100x + 44.450



ภาพที่ 6 กราฟมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก ครั้งที่ 2 (วัดค่าการดูดกลืนแสง 244 นาโนเมตร)

การหาปริมาณกรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid) ของสารสกัดตัวอย่างจากใบ

นำสารตัวอย่างที่สกัดได้จำนวน 2 ชนิด มาหาปริมาณกรดแอสคอร์บิก โดยนำค่าพื้นที่ใต้พีคของสารสกัดเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก (ภาพที่ 6) ความเข้มข้นของสารตัวอย่างซึ่งได้จากการอ่านเทียบกับกราฟมาตรฐาน นำไปแทนค่าในสูตรการคำนวณหาปริมาณกรดแอสคอร์บิก รายงานผลปริมาณกรดแอสคอร์บิกต่อน้ำหนักพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass.

ตัวอย่างที่ 2.1 (ใบสด) 5.0000 กรัม และ ตัวอย่างที่ 2.2 (ใบอบแห้ง) 3.0000 กรัม ดังแสดงในตารางที่ 12

จากการนำตัวอย่างที่ 2.1 ไปทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง พบว่าเวลารีเทนชันของกรดแอสคอร์บิกจากตัวอย่างทั้งสองเท่ากับ 3.698 นาที และ 3.785 นาที ตามลำดับ พบพื้นที่ใต้พีค ซึ่งมีค่าความเข้มข้นของตัวอย่างทั้งสอง และนำค่าดังกล่าวไปคำนวณในสูตร พบว่าปริมาณกรดแอสคอร์บิก ที่มีอยู่ในตัวอย่างทั้งสองมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 18.98 mg/kg

จากการนำตัวอย่างที่ 2.2 ไปทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง พบว่าเวลารีเทนชันของกรดแอสคอร์บิกจากตัวอย่างทั้งสองเท่ากับ 3.747 นาที และ 3.687 นาที ตามลำดับ พบพื้นที่ใต้พีค ซึ่งมีค่าความเข้มข้นของตัวอย่างทั้งสอง และนำค่าดังกล่าวไปคำนวณในสูตร พบว่าปริมาณกรดแอสคอร์บิก ที่มีอยู่ในตัวอย่างทั้งสองมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 138.77 mg/kg

ตารางที่ 12 ปริมาณของกรดแอสคอร์บิก ในสารตัวอย่าง ครั้งที่ 2 (n=2)*

สารที่วิเคราะห์	ตัวอย่างที่ 2.1		ตัวอย่างที่ 2.2		หน่วย
	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	
Ascorbic acid	5.0000	18.98	3.0000	138.77	mg/kg

* วิธีการคำนวณ แสดงไว้ในวิธีการวิจัย

การหาปริมาณสารไธอามีน (Thiamine) ครั้งที่ 1

การหาปริมาณของสารไธอามีน ครั้งที่ 1 โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานไธอามีนต่อน้ำหนักตัวอย่าง 5.0000 กรัม

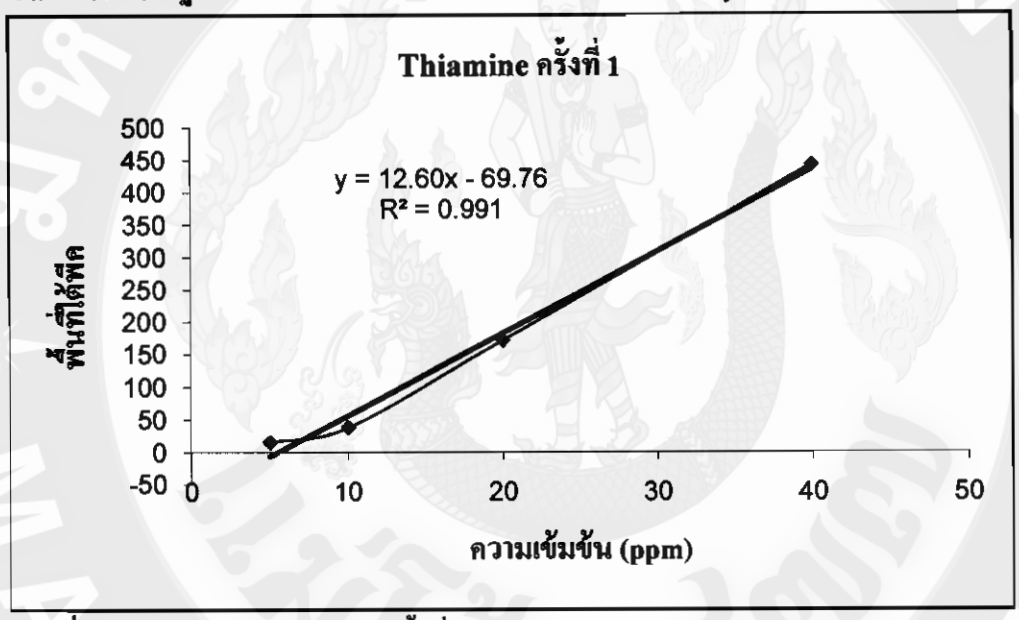
การสร้างกราฟมาตรฐาน (Callibration curves)

เตรียมสารละลายมาตรฐานไธอามีน เข้มข้น 5 ถึง 40 พีพีเอ็ม จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณของสารไธอามีนด้วยเครื่อง HPLC ซึ่งใช้ดีเทคเตอร์ คือ Diode Array Detector (DAD) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร ดังตารางที่ 13 และภาพที่ 7

ตารางที่ 13 ค่าพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐานไธอามีน ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ครั้งที่ 1

ครั้งที่ 1	
สารไธอามีน	
ความเข้มข้น (ppm)	พื้นที่ใต้พีค
5	15.07
10	38.20
20	171.15
40	441.65

จากกราฟมาตรฐานที่ได้จากการทดลอง โดยสมการที่ได้เท่ากับ $y = 12.602x - 69.768$



ภาพที่ 7 กราฟมาตรฐานไธอามีน ครั้งที่ 1 (วัดค่าการดูดกลืนแสง 280 นาโนเมตร)

การหาปริมาณสารไธอามีน (Thiamine) ของสารสกัดตัวอย่างจากใบผสมยอด

นำสารตัวอย่างที่สกัดได้จำนวน 2 ชนิด มาหาปริมาณสารไธอามีน โดยนำค่าพื้นที่ใต้พีคของสารสกัดเทียบกับกราฟมาตรฐานไธอามีน (ภาพที่ 7) ความเข้มข้นของสารตัวอย่างซึ่งได้จากการอ่านเทียบกับกราฟมาตรฐาน นำไปแทนค่าในสูตรการคำนวณหาปริมาณสารไธอามีน รายงานผลปริมาณสารไธอามีนต่อน้ำหนักพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. ตัวอย่างที่ 1.1 (ใบผสมยอดสด) 5.0000 กรัม และตัวอย่างที่ 1.2 (ใบผสมยอดอบแห้ง) 5.0000 กรัม ดังแสดงในตารางที่ 14

จากการนำตัวอย่างที่ 1.1 และ 1.2 ไปทำการทดลองซ้ำตัวอย่างละ 2 ครั้ง พบว่าเวลารีเทนชันของสารไธอามีน เท่ากับ 1.002 นาที แต่ไม่พบพื้นที่ใต้พีค และค่าความเข้มข้นของตัวอย่าง

ทั้งสองมีค่าเท่ากับศูนย์ (µg/mL) ดังนั้นเมื่อนำค่าดังกล่าวไปคำนวณในสูตร พบว่าปริมาณสารไธอามีน ที่มีอยู่ในตัวอย่างทั้งสองมีค่าเท่ากับศูนย์เช่นเดียวกัน

ตารางที่ 14 ปริมาณของสารไธอามีน ในสารตัวอย่าง ครั้งที่ 1 (n=2)*

สารที่วิเคราะห์	ตัวอย่างที่ 1.1		ตัวอย่างที่ 1.2		หน่วย
	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	
Thiamine	5.0000	ไม่พบสาร	5.0000	ไม่พบสาร	mg/kg

* วิธีการคำนวณ แสดงไว้ในวิธีการวิจัย

การหาปริมาณสารไธอามีน (Thiamine) ครั้งที่ 2

การหาปริมาณของสารไธอามีน ครั้งที่ 2 โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานไธอามีนต่อน้ำหนักตัวอย่าง 5.0000 กรัม

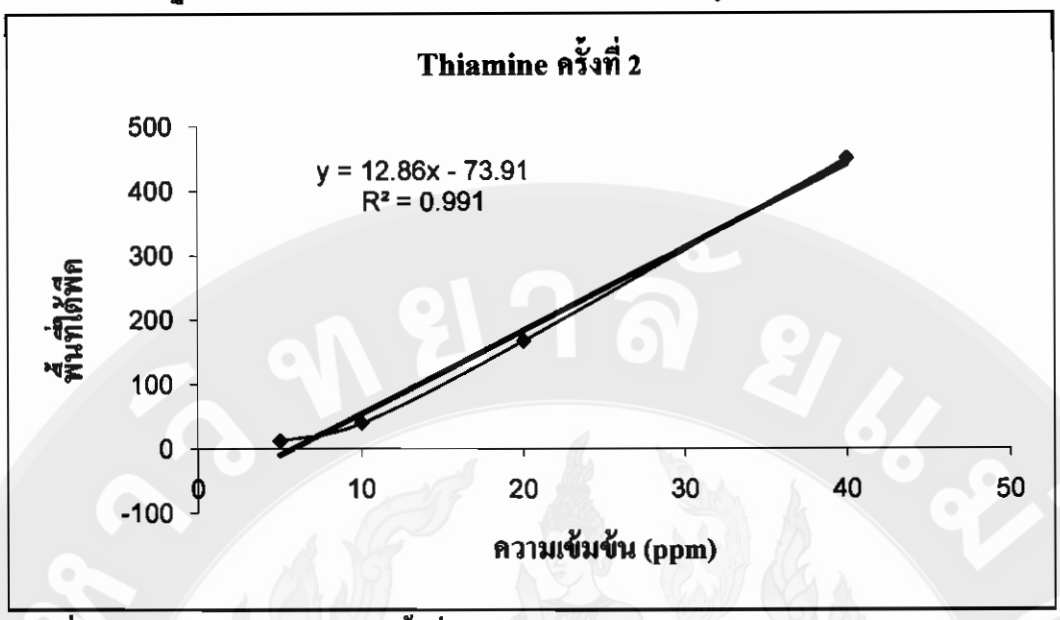
การสร้างกราฟมาตรฐาน (Callibration curves)

เตรียมสารละลายมาตรฐานไธอามีน เข้มข้น 5 ถึง 40 พีพีเอ็ม จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณของสารไธอามีนด้วยเครื่อง HPLC ซึ่งใช้ดีเทคเตอร์ คือ Diode Array Detector (DAD) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร ดังตารางที่ 15 และภาพที่ 8

ตารางที่ 15 ค่าพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐานไธอามีน ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ครั้งที่ 2

ครั้งที่ 2	
สารไธอามีน	
ความเข้มข้น (ppm)	**พื้นที่ใต้พีค**
5	12.22
10	40.06
20	167.02
40	449.57

จากกราฟมาตรฐานที่ได้จากการทดลอง โดยสมการที่ได้เท่ากับ y = 12.861x – 73.917



ภาพที่ 8 กราฟมาตรฐานไธอามีน ครั้งที่ 2 (วัดค่าการดูดกลืนแสง 280 นาโนเมตร)

การหาปริมาณสารไธอามีน (Thiamine) ของสารสกัดตัวอย่างจากใบ

นำสารตัวอย่างที่สกัดได้จำนวน 2 ชนิด มาหาปริมาณสารไธอามีน โดยนำค่าพื้นที่ใต้พีคของสารสกัดเทียบกับกราฟมาตรฐานไธอามีน (ภาพที่ 8) ความเข้มข้นของสารตัวอย่างซึ่งได้จากการอ่านเทียบกับกราฟมาตรฐาน นำไปแทนค่าในสูตรการคำนวณหาปริมาณสารไธอามีน รายงานผลปริมาณสารไธอามีนต่อน้ำหนักพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. ตัวอย่างที่ 2.1 (ใบสด) 5.0000 กรัม และ ตัวอย่างที่ 2.2 (ใบอบแห้ง) 5.0000 กรัม ดังแสดงในตารางที่ 16

จากการนำตัวอย่างที่ 2.1 และ 2.2 ไปทำการทดลองซ้ำตัวอย่างละ 2 ครั้ง พบว่าเวลารีเทนชันของสารไธอามีน เท่ากับ 1.002 นาที แต่ไม่พบพื้นที่ใต้พีค และค่าความเข้มข้นของตัวอย่างทั้งสองมีค่าเท่ากับศูนย์ (µg/mL) ดังนั้นเมื่อนำค่าดังกล่าวไปคำนวณในสูตร พบว่าปริมาณสารไธอามีน ที่มีอยู่ในตัวอย่างทั้งสองมีค่าเท่ากับศูนย์เช่นเดียวกัน

ตารางที่ 16 ปริมาณของสารไธอามีน ในสารตัวอย่าง ครั้งที่ 2 (n=2)*

สารที่วิเคราะห์	ตัวอย่างที่ 2.1		ตัวอย่างที่ 2.2		หน่วย
	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	
Thiamine	5.0000	ไม่พบสาร	5.0000	ไม่พบสาร	mg/kg

* วิธีการคำนวณ แสดงไว้ในวิธีการวิจัย

การหาปริมาณสารไรโบฟอลวิน (Riboflavin) ครั้งที่ 1

การหาปริมาณของสารไรโบฟอลวิน ครั้งที่ 1 โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานไรโบฟอลวิน ต่อน้ำหนักตัวอย่าง 5.0000 กรัม

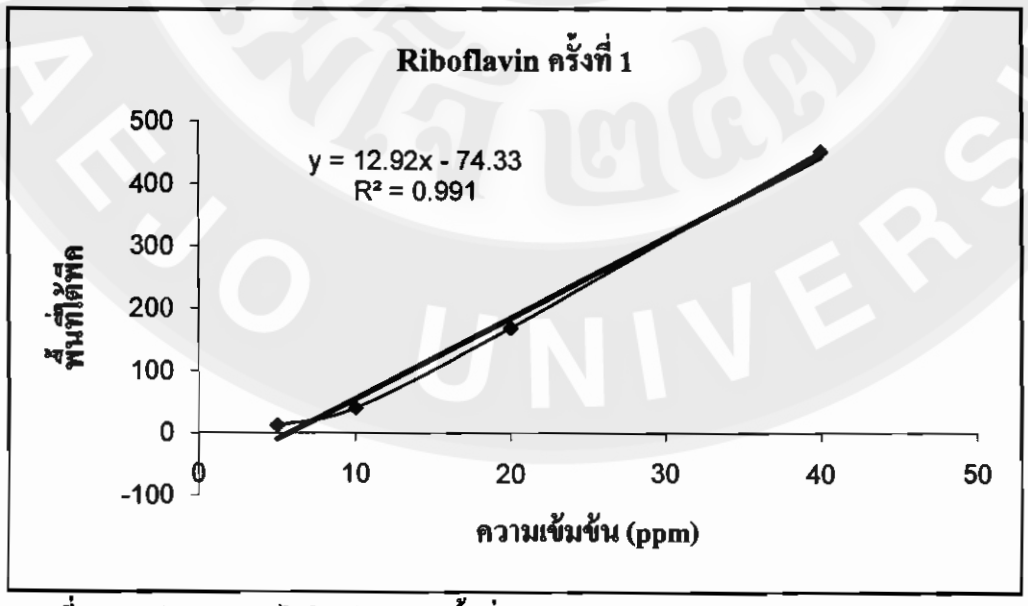
การสร้างกราฟมาตรฐาน (Callibration curves)

เตรียมสารละลายมาตรฐานไรโบฟอลวิน เข้มข้น 5 ถึง 40 พีพีเอ็ม จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณของสารไรโบฟอลวิน ด้วยเครื่อง HPLC ซึ่งมีดีเทคเตอร์ คือ Diode Array Detector (DAD) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร ดังตารางที่ 17 และภาพที่ 9

ตารางที่ 17 ค่าพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐานไรโบฟอลวิน ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ครั้งที่ 1

ครั้งที่ 1	
สารไรโบฟอลวิน	
ความเข้มข้น (ppm)	พื้นที่ใต้พีค
5	12.07
10	40.20
20	168.15
40	451.65

จากกราฟมาตรฐานที่ได้จากการทดลอง โดยสมการที่ได้เท่ากับ $y = 12.925x - 74.333$



ภาพที่ 9 กราฟมาตรฐานไรโบฟอลวิน ครั้งที่ 1 (วัดค่าการดูดกลืนแสง 280 นาโนเมตร)

การหาปริมาณสารไรโบฟอลวิน (Riboflavin) ของสารสกัดตัวอย่างจากใบผสมยอด

นำสารตัวอย่างที่สกัดได้จำนวน 2 ชนิด มาหาปริมาณสารไรโบฟอลวิน โดยนำค่าพื้นที่ใต้พีคของสารสกัดเทียบกับกราฟมาตรฐานไรโบฟอลวิน (ภาพที่ 9) ความเข้มข้นของสารตัวอย่างซึ่งได้จากการอ่านเทียบกับกราฟมาตรฐาน นำไปแทนค่าในสูตรการคำนวณหาปริมาณสารไรโบฟอลวิน รายงานผลปริมาณสารไรโบฟอลวินต่อน้ำหนักพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. ตัวอย่างที่ 1.1 (ใบผสมยอดสด) 5.0000 กรัม และตัวอย่างที่ 1.2 (ใบผสมยอดอบแห้ง) 5.0000 กรัม ดังแสดงในตารางที่ 18

จากการนำตัวอย่างที่ 1.1 และ 1.2 ไปทำการทดลองซ้ำตัวอย่างละ 2 ครั้ง พบว่าเวลารีเทนชันของสารไรโบฟอลวิน เท่ากับ 2.369 นาที แต่ไม่พบพื้นที่ใต้พีค และค่าความเข้มข้นของตัวอย่างทั้งสองมีค่าเท่ากับศูนย์ (μg/mL) ดังนั้นเมื่อนำค่าดังกล่าวไปคำนวณในสูตร พบว่าปริมาณสารไรโบฟอลวิน ที่มีอยู่ในตัวอย่างทั้งสองมีค่าเท่ากับศูนย์เช่นเดียวกัน

ตารางที่ 18 ปริมาณของสารไรโบฟอลวิน ในสารตัวอย่าง ครั้งที่ 1 (n=2)*

สารที่วิเคราะห์	ตัวอย่างที่ 1.1		ตัวอย่างที่ 1.2		หน่วย
	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	
Riboflavin	5.0000	ไม่พบสาร	5.0000	ไม่พบสาร	mg/kg

* วิธีการคำนวณ แสดงไว้ในวิธีการวิจัย

การหาปริมาณสารไรโบฟอลวิน (Riboflavin) ครั้งที่ 2

การหาปริมาณของสารไรโบฟอลวิน ครั้งที่ 2 โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานไรโบฟอลวิน ต่อน้ำหนักตัวอย่าง 5.0000 กรัม

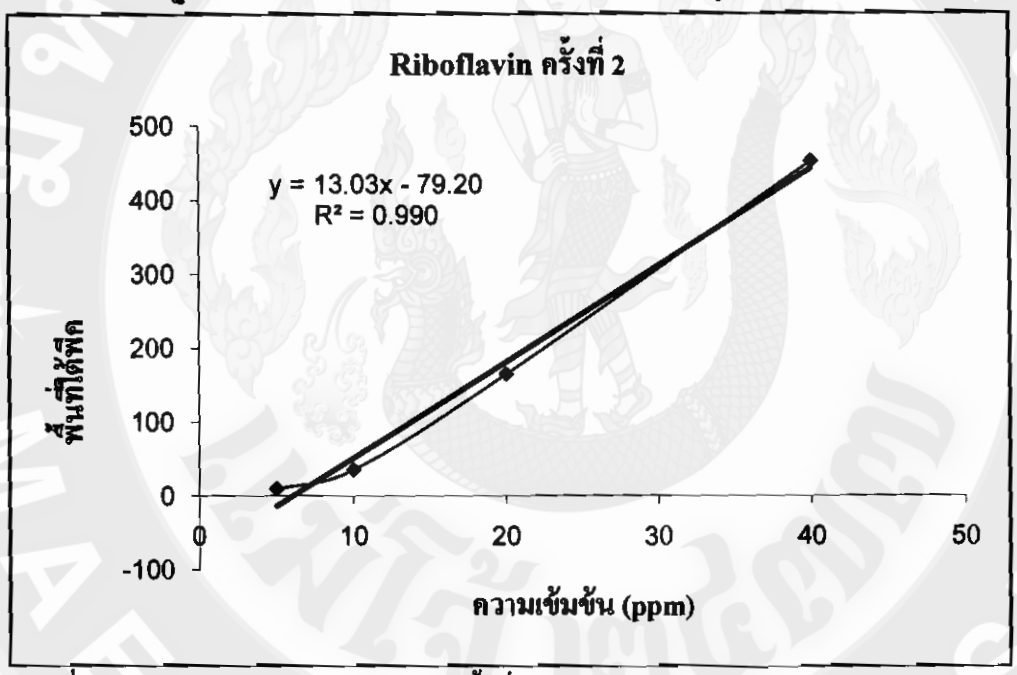
การสร้างกราฟมาตรฐาน (Callibration curves)

เตรียมสารละลายมาตรฐานไรโบฟอลวิน เข้มข้น 5 ถึง 40 พีพีเอ็ม จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณของสารไรโบฟอลวิน ด้วยเครื่อง HPLC ซึ่งมีดีเทคเตอร์ คือ Diode Array Detector (DAD) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร ดังตารางที่ 19 และภาพที่ 10

ตารางที่ 19 ค่าพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐานไรโบฟอลวิน ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ครั้งที่ 2

ครั้งที่ 2	
สารไรโบฟอลวิน	
ความเข้มข้น (ppm)	พื้นที่ใต้พีค
5	9.07
10	35.20
20	165.15
40	451.65

จากกราฟมาตรฐานที่ได้จากการทดลอง โดยสมการที่ได้เท่ากับ y = 13.038x – 79.202



ภาพที่ 10 กราฟมาตรฐานไรโบฟอลวิน ครั้งที่ 2 (วัดค่าการดูดกลืนแสง 280 นาโนเมตร)

การหาปริมาณสารไรโบฟอลวิน (Riboflavin) ของสารสกัดตัวอย่างจากใบ

นำสารตัวอย่างที่สกัดได้จำนวน 2 ชนิด มาหาปริมาณสารไรโบฟอลวิน โดยนำค่าพื้นที่ใต้พีคของสารสกัดเทียบกับกราฟมาตรฐานไรโบฟอลวิน (ภาพที่ 10) ความเข้มข้นของสารตัวอย่างซึ่งได้จากการอ่านเทียบกับกราฟมาตรฐาน นำไปแทนค่าในสูตรการคำนวณหาปริมาณสารไรโบฟอลวิน รายงานผลปริมาณสารไรโบฟอลวินต่อน้ำหนักพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. ตัวอย่างที่ 2.1 (ใบสด) 5.0000 กรัม และ ตัวอย่างที่ 2.2 (ใบอบแห้ง) 5.0000 กรัม ดังแสดงในตารางที่ 20

จากการนำตัวอย่างที่ 2.1 และ 2.2 ไปทำการทดลองซ้ำตัวอย่างละ 2 ครั้ง พบว่าเวลารีเทนชันของสารไรโบฟอลวิน เท่ากับ 2.369 นาที แต่ไม่พบพื้นที่ใต้พีค และค่าความเข้มข้นของ

ตัวอย่างทั้งสองมีค่าเท่ากับศูนย์ (µg/mL) ดังนั้นเมื่อนำค่าดังกล่าวไปคำนวณในสูตร พบว่าปริมาณสารไรโบฟอลวิน ที่มีอยู่ในตัวอย่างทั้งสองมีค่าเท่ากับศูนย์เช่นเดียวกัน

ตารางที่ 20 ปริมาณของสารไรโบฟอลวิน ในสารตัวอย่าง ครั้งที่ 2 (n=2)*

สารที่วิเคราะห์	ตัวอย่างที่ 2.1		ตัวอย่างที่ 2.2		หน่วย
	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	น้ำหนัก (g)	ผลการวิเคราะห์	
Riboflavin	5.0000	ไม่พบสาร	5.0000	ไม่พบสาร	mg/kg

* วิธีการคำนวณ แสดงไว้ในวิธีการวิจัย

สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย

งานวิจัยครั้งนี้ได้ทำการศึกษาสารสำคัญจากพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. ซึ่งเก็บมาจาก ตำบลหนองหาร อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ โดยนำพืชสมุนไพรดังกล่าวมาเตรียมเป็นตัวอย่างได้ 4 ตัวอย่าง ได้แก่ ตัวอย่างที่ 1.1 คือ ใบผสมยอดสดของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. ตัวอย่างที่ 1.2 คือ ใบผสมยอดที่อบแห้งของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. ตัวอย่างที่ 2.1 คือ ใบสดของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. และตัวอย่างที่ 2.2 คือ ใบที่อบแห้งของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. โดยนำตัวอย่างแต่ละตัวอย่างไปทำการทดลองซ้ำตัวอย่างละ 2 ครั้ง เราใช้เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง เพื่อหาปริมาณสารสำคัญ ได้แก่ 1. สาร α - retinol ซึ่งมีชื่อเป็นที่รู้จักกันในนาม "วิตามินเอ" 2. สาร α - tocophenol ซึ่งมีชื่อเป็นที่รู้จักกันในนาม "วิตามินอี" 3. สาร ascorbic acid ซึ่งมีชื่อเป็นที่รู้จักกันในนาม "วิตามินซี" 4. สาร thiamine ซึ่งมีชื่อเป็นที่รู้จักกันในนาม "วิตามินบีหนึ่ง" และ 5. สาร riboflavin ซึ่งมีชื่อเป็นที่รู้จักกันในนาม "วิตามินบีสอง"

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า พบปริมาณกรดแอสคอร์บิกในตัวอย่างที่ 1.1 (ใบผสมยอดสด), ตัวอย่างที่ 1.2 (ใบผสมยอดอบแห้ง), ตัวอย่างที่ 2.1 (ใบสด) และตัวอย่างที่ 2.2 (ใบอบแห้ง) เท่ากับ 18.96, 138.77, 18.98, และ 138.77 mg/kg ตามลำดับ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่ากรดแอสคอร์บิกในตัวอย่างใบผสมยอดสดมีปริมาณเท่ากับกรดแอสคอร์บิกในตัวอย่างใบสดของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. และพบว่ากรดแอสคอร์บิกในตัวอย่างใบผสมยอดและตัวอย่างใบสดมีปริมาณน้อยกว่าในตัวอย่างทั้งสองที่อบแห้ง เหตุที่ตัวอย่างอบแห้งทั้งสองมีปริมาณของสารสำคัญมากกว่า นั้นอาจมีผลเนื่องมาจากตัวอย่างสดของพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. มีเปอร์เซ็นความชื้น (เปียก) คิดเป็นร้อยละ 91.97

แต่จากการทดลองตัวอย่างทั้งสี่ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าไม่พบสารดังต่อไปนี้ คือ สารแอลฟา-เรตินอล สารแอลฟา-โทโคฟีรอล สารไธอามีน และสารไรโบฟอลวิน อาจเป็นผลมาจากสารสำคัญที่มีอยู่ในตัวอย่างทั้งสี่มีปริมาณน้อยกว่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานต่าง ๆ ที่เตรียมไว้ ตัวอย่างเช่น ในตัวอย่างทั้งสี่อาจมีสารแอลฟา- เรตินอล เข้มข้นน้อยกว่า 0.5 พีพีเอ็ม ในตัวอย่างทั้งสี่อาจมีสารแอลฟา-โทโคฟีรอล เข้มข้นน้อยกว่า 1 พีพีเอ็ม ในตัวอย่างทั้งสี่อาจมีสารไธอามีน เข้มข้นน้อยกว่า 5 พีพีเอ็ม และในตัวอย่างทั้งสี่อาจมีสารไรโบฟอลวิน เข้มข้นน้อยกว่า 5 พีพีเอ็ม เป็นต้น เนื่องจากโครงการวิจัยนี้เป็นโครงการต่อเนื่อง 2 ปี ดังนั้นโครงการฯ จึงอยู่ในช่วงดำเนินการในปีที่ 2 และยังคงศึกษาสารสำคัญที่มีอยู่ในพืชสมุนไพร *Gynura auriculata* Cass. ต่อไป